

Infección cutánea por citomegalovirus y radicales libres en el mecanismo patogénico del vitiligo generalizado de inicio reciente

Carlos Galarza,^{1,2} Willy Ramos,¹ Gerardo Ronceros,¹ Raquel Oré,³ Ericson Gutiérrez,¹ Jack Ávila,¹ Rosa Meléndez,⁴ María Escalante,⁴ Inés León,⁴ Ernesto Ráez,⁴ Humberto Chía,¹ Alex Ortega-Loayza⁵

Cytomegalovirus skin infection and free radicals in the initial pathogenic mechanism of early onset generalized vitiligo

RESUMEN

OBJETIVO. Determinar el rol de la infección cutánea por citomegalovirus (CMV) y de los niveles elevados de peroxidación lipídica en piel y sangre, en el mecanismo patogénico del vitiligo generalizado de inicio reciente (VGIR).

MATERIAL Y MÉTODOS. Estudio analítico de casos y controles. Los pacientes fueron captados en el Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Dos de Mayo (Lima, Perú) y seleccionados de acuerdo a criterios de inclusión/exclusión; luego, pasaron a formar parte de los grupos de investigación: Grupo de estudio: 30 pacientes con diagnóstico de VGIR (1 a 12 meses). Grupo control: 30 sujetos sin lesiones en la piel. Se obtuvieron muestras de piel de las lesiones del grupo de estudio y piel sana del grupo control, a las que se les realizó reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para CMV y estudio anatomopatológico con la tinción de hematoxilina-eosina (HE) e inmunoperoxidasa. Se obtuvieron muestras de sangre y piel de ambos grupos a las que se les realizó la cuantificación de peroxidación lipídica, mediante el dosaje del malondialdehído (MDA).

RESULTADOS. El 76,6% de los pacientes con VGIR fueron positivos para genoma de CMV en comparación con el 23,3% del grupo control ($p < 0,001$). En el examen anatomopatológico realizado con las tinciones HE e inmunohistoquímica no se encontraron casos positivos de infección por CMV en ambos grupos. Los niveles de MDA del grupo de estudio fueron significativamente mayores en los pacientes con VGIR en comparación con el grupo control, tanto en piel ($p < 0,001$) como en sangre ($p < 0,001$).

CONCLUSIONES. Existe asociación entre la infección cutánea por CMV y el daño mediado por radicales libres constituyen mecanismos importantes en el vitiligo generalizado de inicio reciente.

PALABRAS CLAVE. Vitiligo generalizado de inicio reciente, citomegalovirus, peroxidación lipídica, estrés oxidativo.

ABSTRACT

AIM. To demonstrate skin infection by cytomegalovirus (CMV) and increased serum lipoperoxidation levels in patients with early onset generalized vitiligo.

SUBJECTS AND METHODS. Case-control study, implemented since march 2004 until December 2005. Patients were divided into two groups: group A, 30 patients with recent diagnostic of vitiligo; group B, 30 controls without skin lesions. Skin samples were ob-

tained from the patients of both groups; which were assessed by polymerase chain reaction (PCR) for CMV genome, histopathologic test with hematoxilin-eosin stain and immunoperoxidase. Likewise, blood samples were obtained to determinate radical free levels (lipoperoxidation).

RESULTS. Twenty three patients with vitiligo (76,6%) were positive for CMV genome by PCR test, while 7 controls (23,3%) were positive for CMV genome. Likewise a significant statistically difference for CMV infection in patients with vitiligo versus control group ($p < 0,001$) was found. The histopathology evaluation was negative for both groups. A significant statistically difference between lipoperoxidation levels in patients with vitiligo and controls ($p < 0,001$) was found in skin and blood.

CONCLUSIONS. There is an association between skin infection by CMV and vitiligo in a select group of patients, which have their systemic oxidant state increased in the first year of the disease.

KEY WORDS. Vitiligo, Cytomegalovirus, lipoperoxidation, free radicals.

1. Instituto de Investigaciones Clínicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.
2. Miembro de la Academia Nacional de Medicina. Lima, Perú.
3. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Barrón. UNMSM. Lima, Perú.
4. Instituto de Patología. UNMSM. Lima, Perú.
5. Department of Dermatology, Virginia Commonwealth University, Richmond, EE. UU.

INTRODUCCIÓN

El vitíligo es un desorden pigmentario cutáneo idiopático adquirido que puede presentarse a cualquier edad. Se manifiesta por la aparición progresiva de máculas acrómicas que indican destrucción y muerte de los melanocitos de la piel. Se asocia comúnmente a enfermedades autoinmunes (tiroiditis, anemia perniciosa, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, etc.). Es por esta razón que anticuerpos organoespecíficos han sido encontrados con más frecuencia en pacientes con vitíligo que en la población general.⁽¹⁻¹²⁾

Al principio las lesiones suelen ser focos circunscritos, pueden aumentar en número y confluir, asumiendo una distribución localizada o generalizada. El vitíligo localizado se restringe a un área corporal o segmento, también llamado cuasidermatoma; el vitíligo generalizado implica afectación de múltiples áreas. Las máculas acrómicas normalmente se encuentran distribuidas simétricamente.^(3,4)

Los melanocitos foliculares y epidermales son células derivadas de la cresta neural que están en estrecho contacto con los queratinocitos. La absorción de fotones por el ADN de las células de la piel puede causarle daño incrementando riesgo para desarrollar cáncer, además los radicales de oxígeno generados por la radiación ultravioleta pueden alterar las propiedades de las proteínas que intervienen en la función de control del crecimiento y supervivencia celular. La protección de este daño es mediado por la melanina, que es capaz de absorber los rayos UV y funciona como un *scavenger* de radicales libres de oxígeno. El principal regulador de la síntesis de melanina in vivo es la radiación ultravioleta (UV) que puede estimular a los melanocitos directamente o por la vía de la inducción de secreción paracrina de varias sustancias.⁽¹³⁻¹⁷⁾

A pesar de que la patogenia del vitíligo es desconocida, en los últimos años se han realizado considerables avances. Algunas hipótesis propuestas son la autoinmune, citotóxica, neural y bioquímica.⁽¹⁷⁾ Con relación al mecanismo autoinmune, anticuerpos dirigidos a antígenos melanocíticos han sido demostrados en el suero de pacientes con vitíligo. Algunos estudios han reportado que el principal antígeno reconocido por estos anticuerpos es la tirosinasa. Los primeros indicadores de un posible rol de las células T provienen de los casos reportados en el vitíligo inflamatorio donde la lesión macular acrómica está rodeada por un borde eritematoso. Estudios histopatológicos de la piel perilesional sugieren la implicancia de los linfocitos en el proceso de la despigmentación. Por inmunohistoquímica se ha demostrado la presencia de infiltrados de células T y su contacto perilesional con los melanocitos.⁽¹⁸⁻²²⁾

Recientemente, la infección viral ha sido implicada en la patogénesis de una variedad de enfermedades autoinmunes por lo que se ha planteado la posibilidad de que esto también ocurra en el vitíligo. Se ha buscado determinar la presencia de genomas virales mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) de virus herpes simple, varicela-zóster, citomegalovirus (CMV), virus Epstein-Barr y HTLV-1 en muestras de piel de estos pacientes. Los estudios han mostrado asociación únicamente con CMV.

En 1996, Grimes realizó un estudio en 29 pacientes con vitíligo y 22 controles. En el grupo de pacientes con vitíligo, 11 (38%) fueron positivos para genoma viral de CMV mientras que los controles resultaron negativos, concluyendo que la infección por CMV puede actuar como desencadenante de vitíligo.⁽²³⁾

Sanad (2001) publica los resultados de su estudio 'Rol del citomegalovirus en el vitíligo: efectos sobre macrófagos, receptores de interleucina-2 (IL-2), interferón gamma y tenascina', en el que se incluyeron 18 pacientes con vitíligo, 11 de ellos con enfermedad activa de duración menor de un año y siete pacientes con enfermedad estable demostrándose la presencia de ADN de CMV en seis pacientes con enfermedad activa (54,5%). Ninguno de los casos de vitíligo estable ni controles fueron positivos para ADN viral.⁽²⁴⁾

Akar (2002), por otro lado, luego de evaluar 34 pacientes no encuentra infección por CMV.⁽²⁵⁾ En un estudio preliminar y parcial, el autor de esta tesis reporta asociación entre infección por CMV y vitíligo en pacientes y controles.⁽²⁶⁾ Los resultados de estos estudios no son categóricos y sugieren que la infección viral por CMV podría actuar como factor desencadenante en un grupo selecto de pacientes.⁽²³⁻²⁵⁾

El estrés oxidativo podría ser también un importante fenómeno iniciador de la muerte del melanocito. La acumulación de peróxido de hidrógeno y bajos niveles de catalasa han sido encontrados en la epidermis de pacientes con vitíligo. Se ha descrito anomalías en los sistemas antioxidantes en piel y sangre de pacientes con vitíligo.⁽²⁷⁻³³⁾ Observaciones ultraestructurales (microscopía electrónica) de la epidermis de pacientes con vitíligo han mostrado presencia de vacuolas de contenido lipídico en melanocitos y queratinocitos, lo cual sería un indicador de peroxidación lipídica.^(34,35)

Muestras de piel sana y piel de lesiones acrómicas en el vitíligo han demostrado consistente reducción de los niveles de catalasa comparadas con muestras de sujetos clínicamente sanos. La disminución en la actividad de la catalasa está en relación directa con el incremento de la concentración de

peróxido de hidrógeno en la epidermis de estos pacientes. El peróxido de hidrógeno funciona como un inhibidor reversible de la tirosina humana *in vitro*. El peróxido de hidrógeno experimenta también reducción fotoquímica resultando radicales hidroxilo, los cuales son capaces de neutralizar la melanina constitucional y causar lisis de la membrana por peroxidación lipídica; se observó un incremento del pH de la epidermis de estos pacientes como consecuencia de la actividad de la glutatión reductasa.⁽²⁷⁾

En otro estudio, Maresca estudió antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en melanocitos cultivados de sujetos normales ($n = 20$) y de melanocitos de piel aparentemente normal de pacientes ($n = 10$). Las células fueron expuestas a varias concentraciones de agentes peroxidantes (hidroperóxido de cumeno $0,6-20 \mu\text{mol}$) por 1 y 24 horas. Se encontró que los melanocitos de pacientes con vitíligo mostraron niveles normales de superóxido dismutasa y significativamente menor actividad de la catalasa, mayor nivel de vitamina E y menor nivel de ubiquinona en comparación con los melanocitos de controles sanos. El estudio sugiere que la alteración en los antioxidantes fue la base para la sensibilidad al estrés oxidativo. Se demostró también un desbalance del sistema antioxidante en los melanocitos de los pacientes con vitíligo, lo que sugiere que el daño mediado por radicales libres sería el evento patogénico inicial en la degeneración del melanocito.⁽³²⁾

Otro estudio, que fue realizado en voluntarios negros con lesiones activas de vitíligo, mostró que las concentraciones séricas de diversos antioxidantes y niveles de selenio fueron significativamente elevadas en comparación con los controles. Los niveles sanguíneos de ferritina, transferrina, ceruloplasmina, retinol y tocoferol no se modificaron significativamente.⁽³³⁾

El objetivo del presente estudio fue determinar el rol de la infección cutánea por CMV y de los niveles elevados de peroxidación lipídica en piel y sangre, en el mecanismo patogénico del vitíligo generalizado de inicio reciente (VGIR).

METODOLOGÍA

Estudio de casos y controles realizado en el Instituto de Investigaciones Clínicas de la universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), el Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Dos de Mayo, el Centro de Investigaciones de Bioquímica y Nutrición Alberto Barrón y el Laboratorio de Patología del Hospital Nacional Essalud Guillermo Almenara Irigoyen, durante marzo de 2004 y diciembre de 2005.

Los pacientes fueron captados en el Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Dos de Mayo (Lima, Perú) y fueron seleccionados según criterios de selección y pasaron a formar parte de los siguientes grupos de investigación:

- ▲ Grupo de estudio: conformado por 30 pacientes con diagnóstico de VGIR (de uno a doce meses).
- ▲ Grupo control: constituido por 30 sujetos sin lesiones en la piel.

Los criterios de selección fueron los siguientes:

Criterios de inclusión

- ▲ Grupo de estudio: paciente con diagnóstico clínico de vitíligo generalizado confirmado por estudio anatomopatológico, de cualquier género, con un tiempo de enfermedad menor de un año.
- ▲ Grupo control: sujeto sano de cualquier género sin lesiones en la piel, que clínicamente no presente otra enfermedad inmunológica, pareados por edad y género con los pacientes del grupo de estudio.

Criterios de exclusión

- ▲ Grupo de estudio: pacientes que hayan recibido tratamiento previo, que presenten otras enfermedades autoinmunes y/o infección por VIH.
- ▲ Grupo control: sujetos con alguna enfermedad o lesión cutánea.

Fases del estudio

El estudio se realizó en dos fases:

- ▲ Primera fase: determinación del genoma CMV en piel de los pacientes.
- ▲ Segunda fase: evaluación del estado oxidante en piel y sangre.

Determinación de infección cutánea por CMV

Se obtuvo muestras de piel de los sujetos del grupo de estudio y control, a las que se les realizó RCP para detectar genoma de CMV y estudio anatomopatológico con la tinción de hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica (técnica de inmunoperoxidasa) para detectar hallazgos citopáticos del virus.

Las muestras para RCP se procesaron en el Laboratorio de Patología del Hospital Nacional Essalud Guillermo Almenara Irigoyen (LP-HNGAI), mientras que el estudio anatomopatológico (hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica) se efectuó en el LP-HNGAI y el Instituto de Patología de la UNMSM.

Evaluación del estado oxidante en piel y sangre

Se obtuvo muestras de piel mediante biopsia (con punch de 2 mm) de los sujetos de ambos grupos y se les realizó la prueba de cuantificación de peroxidación lipídica, mediante el dosaje del malonildialdehído (MDA). Asimismo, se tomó una muestra de sangre para determinar los niveles de peroxidación lipídica.

La determinación del MDA se realizó según la técnica de Buege y Aust, midiendo la producción de malondialdehído que al reaccionar con ácido tiobarbitúrico (ATB), forma un complejo coloreado que se lee a 535 nm. El procedimiento fue: 0,5 mL de homogenizado más 1,0 mL de ácido tricloroacético al 20%; se llevó a baño maría por 10 minutos, se enfrió y se agregó 1,5 mL de ATB al 0,67% HCl 0,25 N. Se llevó otra vez a baño maría por 30 minutos. Se enfrió en agua helada y se centrifugó a 4 000 rpm por 10 minutos, se extrajo el sobrenadante y se leyó. Para los cálculos se utilizó el coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}$ del complejo coloreado formado por el MDA-ATB. Las muestras para peroxidación lipídica fueron procesadas en el Centro de Investigaciones de Bioquímica y Nutrición Alberto Barrón de la UNMSM.

Instrumento de recolección de datos

Para el presente estudio se elaboró un instrumento de recolección de datos el cual incluyó datos de filiación, epidemiológicos, antecedentes de importancia, aspectos clínicos y del diagnóstico, datos concernientes a los resultados de exámenes auxiliares empleados para confirmar el diagnóstico. Se incluye una sección con los resultados de la PCR para CMV en piel y peroxidación lipídica en muestras de sangre y piel.

Análisis de datos

Para el análisis de los resultados se empleó el programa estadístico SPSS ver 15.0. Se realizó estadística univariada obteniéndose frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis bivariado se empleó las pruebas estadísticas U de Mann-Withney y ji cuadrado de Pearson. Los cálculos se realizaron con un nivel de confianza de 95%.

Aspectos éticos

En relación a los aspectos éticos, los pacientes aceptaron enrolarse voluntariamente en el estudio y firmaron un consentimiento informado respetándose sus derechos de acuerdo a lo estipulado en la Declaración de Helsinki. La información obtenida fue usada sólo con fines del estudio garantizándose la confidencialidad de los diagnósticos y resultados de los estudios.

RESULTADOS

Los 30 pacientes con VGIR fueron pareados por edad y sexo con los controles. El 53,3% correspondió al sexo masculino y el 46,7%, al sexo femenino. La edad promedio de los pacientes de ambos grupos de investigación fue $32,3 \pm 6,5$ años, 46,7% se encontraban en el grupo de edad de 30 a 39 años; la edad mínima fue 18 y la máxima, 51 años. La distribución por grupo de edad se aprecia en la Tabla 1.

Se encontró que el 76,6% de los pacientes con vitíligo fueron positivos para genoma de CMV mediante RCP en comparación con el 23,3% del grupo control. Existió diferencia estadística significativa para infección por CMV en los pacientes con vitíligo versus los controles ($p < 0,001$).

Al evaluarse la peroxidación lipídica como expresión del daño mediado por radicales libres mediante la determinación sérica del MDA se encontró que la media en el grupo de pacientes con vitíligo fue de $4,94 \pm 2,3 \times 10^6 \text{ mg/L}$, mientras que en el grupo control fue de $1,98 \pm 0,39 \times 10^6 \text{ mg/L}$ ($p < 0,001$); los niveles séricos de MDA se pueden apreciar en la Figura 1.

Los niveles de MDA en piel del grupo de investigación fueron de $29,29 \pm 15,52 \text{ } \mu\text{mol/L}$ mientras que para el grupo control fueron de $5,42 \pm 2,32 \text{ } \mu\text{mol/L}$ existiendo diferencia estadísticamente significativa a favor del grupo de estudio ($p < 0,001$). Esto se puede apreciar en la Figura 2.

La media de los valores séricos de MDA de los pacientes con vitíligo positivos para genoma de CMV fue de $5,04 \pm 2,39 \times 10^6 \text{ mg/L}$; mientras que, en el grupo con vitíligo negativos para infección cutánea por CMV la media fue de $4,60 \pm 2,25 \times 10^6 \text{ mg/L}$ ($p = 0,713$). Los valores séricos de MDA se pueden apreciar en la Figura 3.

En el estudio histopatológico realizado con la tinción hematoxilina-eosina y la inmunohistoquímica con la técnica de inmunoperoxidasa, se encontró un caso en el grupo de

Tabla 1. Distribución por grupo de edad de pacientes con vitíligo y controles pareados por edad y sexo.

Grupo de edad	frecuencia*	%
▲ De 18 a 19 años	2	3,3
▲ De 20 a 29 años	20	33,3
▲ De 30 a 39 años	28	46,7
▲ De 40 a 49 años	8	13,3
▲ De 50 a 59 años	2	3,3
Total	60	100,0

* Incluye pacientes y controles pareados por edad y sexo con casos

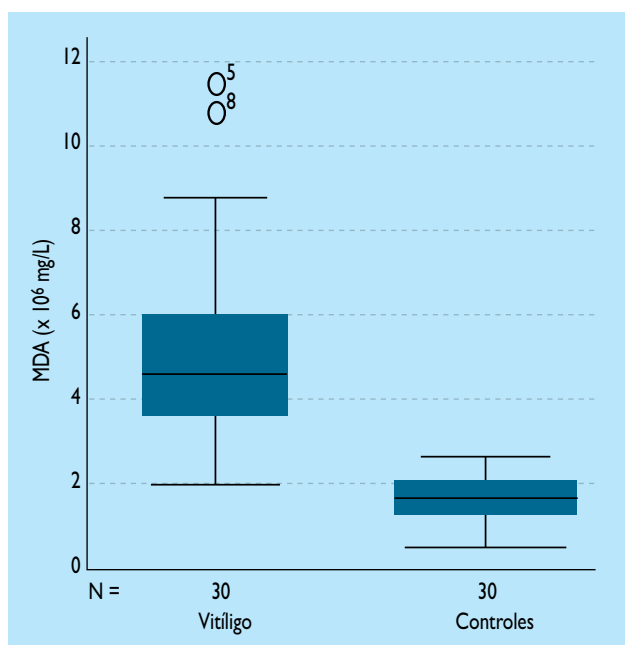


Figura 1. Niveles séricos de malonilaldehído (MDA) en pacientes con vitiligo y controles.

pacientes con vitiligo que mostró cuerpos de inclusión a nivel del estrato córneo de la piel, constituyendo un caso dudoso; que al no reunir los criterios para la infección por CMV fue considerado negativo. No hubo casos positivos de infección por CMV para el grupo de pacientes con vitiligo y los controles.

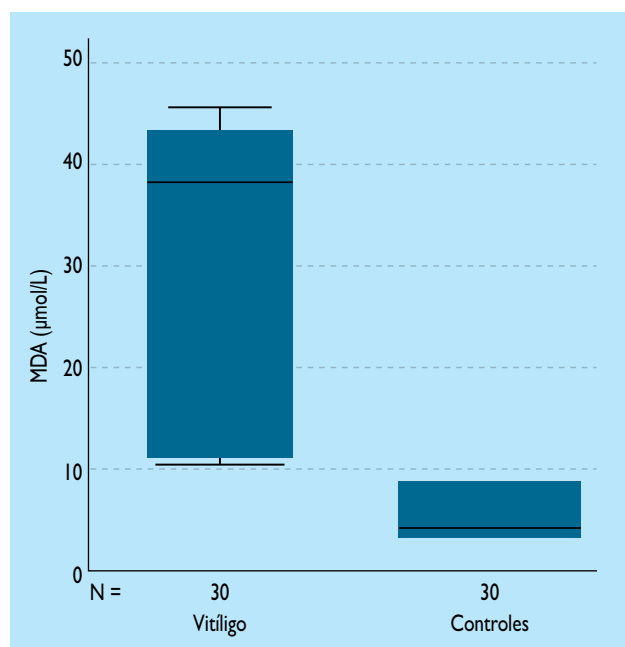


Figura 2. Niveles de malonilaldehído (MDA) en piel de pacientes con vitiligo y controles.

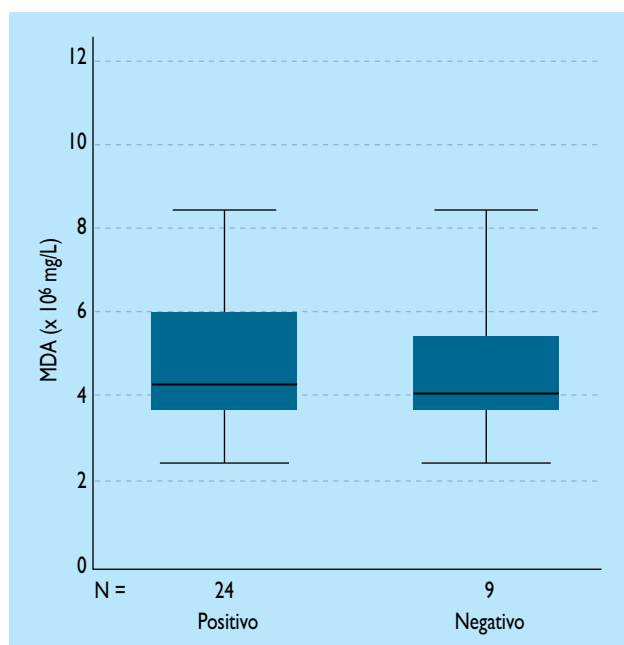


Figura 3. Niveles séricos de malonilaldehído (MDA) en pacientes con vitiligo positivos y negativos para infección por citomegalovirus.

DISCUSIÓN

Diversos trabajos de investigación han encontrado asociación entre la infección por CMV y enfermedades autoinmunes.^(23,24) En nuestro medio, se han reportado dos estudios que documentan infección por este virus en pacientes con colitis ulcerosa del Hospital Nacional Essalud Edgardo Rebagliati Martins (Muro; 2006)⁽³⁶⁾ y del Hospital Nacional Dos de Mayo (Arévalo y col; 2007).⁽³⁷⁾ El presente constituye uno de los pocos trabajos de investigación publicados que evalúan la infección cutánea por CMV en piel en el mecanismo patogénico del vitiligo generalizado, con un tiempo de enfermedad menor o igual a un año (VGIR) y sin enfermedades autoinmunes concomitantes.

El CMV es un virus cosmopolita miembro de la familia herpesviridae cuya prevalencia de anticuerpos indica infección de 40% a 100% de adultos sanos a nivel mundial.^(24,40-43) A menudo, la primoinfección por CMV en niños y adultos sanos se manifiesta mediante un síndrome de mononucleosis infecciosa, la infección en la mayoría de casos se mantiene subclínica, seguida por un largo período de latencia. Las manifestaciones cutáneas de la infección por CMV son poco comunes e inespecíficas.^(25,38-41)

Esto es importante y muestra la razón por la cual estudios realizados con serología no alcanzan resultados consistentes. Un ejemplo de esto constituye el estudio realizado por Steiner y col. (2002) quienes analizaron la serología de 20

pacientes con vitíligo comparada con 20 controles sanos; la prevalencia de anticuerpos en el grupo con vitíligo fue de 90% comparada con los controles que tuvieron una prevalencia de 76,2% no encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos.⁽⁴³⁾ Para este caso, se considera que se realizó un sesgo en la elección de una prueba con alta sensibilidad pero baja especificidad (Elisa) comparada con la RCP en piel, lo que podría haber influenciado los resultados de esta investigación.

En la presente tesis se encontró asociación entre infección cutánea por CMV y vitíligo que fue confirmada mediante RCP para genoma de CMV en muestras obtenidas por biopsia de piel, comparado con el grupo control. Esto mostraría que es factible que sea la infección por CMV en la piel un mecanismo importante en el inicio del vitíligo. Asimismo, corrobora los resultados encontrados por Grimes⁽²³⁾ y Sanad,⁽²⁴⁾ y muestra que la infección cutánea por CMV puede actuar como factor desencadenante de vitíligo en individuos probablemente con predisposición genética.

Los resultados se apoyan en el reporte realizado por Shukla (1996), en el que se encontró evidencias de infección por CMV como causa del vitíligo. El análisis citológico e inmunofluorescencia directa realizados por el autor en seis pacientes con vitíligo e infección por CMV (rango de edad entre los 30 y 40 años y un tiempo de enfermedad mayor de cinco años) de los bordes de las lesiones y de la región sana perilesional mostró diversos grados de degeneración de los melanocitos y de células basales que alcanzaron hasta la fragmentación celular o necrosis. El autor concluye que la infección por CMV explicaría la presencia de historia familiar en 30% de casos y el fenómeno de Koebner como facilitador del ingreso del virus⁽⁴²⁾ de manera similar a lo que ocurre en las infecciones por papilomavirus.

La frecuencia de infección por CMV es alta en ambos grupos de investigación (76,6% en pacientes con vitíligo y 23,3% en los controles) y más alta que la reportada en países del primer mundo, como lo publicado por Sanad y col.⁽²⁴⁾ (54,5%), en pacientes con vitíligo activo, y por Grimes y col.,⁽²³⁾ con una frecuencia de 38% en pacientes con vitíligo y 0% en los controles y el reporte de Akar,⁽²⁵⁾ que no encuentra infección por CMV en 34 pacientes con vitíligo. Se atribuye esta diferencia a que la prevalencia de enfermedades infecciosas (incluyendo las virales) es mayor en países en vías de desarrollo, lo cual mostraría la importancia de estos resultados en este último grupo de países.

En Perú, en un estudio prospectivo y longitudinal realizado por Tagle,⁽⁴⁴⁾ de junio de 2003 a mayo de 2004, en el Hospital

Nacional Essalud Guillermo Almenara Irigoyen, se encontró que de una muestra de 81 pacientes con vitíligo, el 32% presentó serología IgG positiva para CMV. Los resultados obtenidos por Tagle difieren notablemente de los nuestros lo cual puede ser atribuido a varias razones. La primera es que, en este estudio la muestra está constituida por 81 pacientes con vitíligo, con solo 26% de la forma clínica generalizada; la segunda razón es la diferencia de los métodos utilizados para determinar la infección por CMV. Cabe resaltar que la serología es un indicador de infección sistémica por CMV, lo que no implica necesariamente infección cutánea en el momento de realizada la prueba, motivo por el cual se le considera como un marcador indirecto de infección por CMV. Por esta razón, en el presente estudio se utilizó RCP, por ser más sensible y específica que la serología para la determinación de la infección cutánea.

La presente investigación también muestra la importancia de la peroxidación lipídica como expresión del daño mediado por los radicales libres, la cual se presenta a nivel sistémico y no sólo a nivel de la piel. Los niveles de radicales libres determinados indirectamente a través de la peroxidación lipídica son significativamente elevados en el grupo de pacientes con vitíligo lo que muestra la importancia del mecanismo oxidativo en esta enfermedad, lo cual concuerda con los hallazgos de Maresca⁽³²⁾ y Boisseau-Garsaud.⁽³³⁾

La existencia de evidencias del estrés oxidativo ha dado lugar a la investigación de terapias antioxidantes en el vitíligo. De acuerdo a lo anteriormente expuesto, es factible que la terapia antioxidante tópica disminuya el estrés oxidativo en las lesiones cutáneas de los pacientes con VGIR, mediante el aporte de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos disminuyendo la muerte de melanocitos, con la repigmentación de las lesiones.^(45,46) A pesar de esto, la evidencia actual de la eficacia de las terapias tópicas antioxidantes es contradictoria, por lo que se requiere mayores investigaciones acerca del mecanismo patogénico de la enfermedad que muestren el verdadero rol del estrés oxidativo en la enfermedad y cual vía metabólica debe bloquearse para detener o disminuir la progresión del daño mediado por radicales libres (peroxidación lipídica) y que se traduzca en un efecto clínico relevante.

Se han planteado múltiples teorías en el mecanismo patogénico que involucra la muerte del melanocito en el vitíligo, siendo la más aceptada la autoinmune, sin embargo nuestros resultados mostrarían que al menos en el VGIR es importante más de un mecanismo que al parecer una vez desencadenada la enfermedad actuarían de manera independiente en la perpetuación de este circuito, aunque no de manera sinérgica. La producción de radicales libres

no sería la causa de la enfermedad sino más bien una consecuencia de su actividad.

El estudio histopatológico con hematoxilina-eosina y la inmunohistoquímica (técnica de inmunoperoxidasa) no mostraron positividad para CMV en el grupo de pacientes con vitiligo ni en los controles. Solo se encontró en el grupo de pacientes con vitiligo un caso que mostró cuerpos de inclusión a nivel del estrato córneo constituyendo un caso dudoso, que al no reunir los criterios para la infección por CMV fue considerado negativo. En el caso de la inmunohistoquímica la técnica es dependiente de una reacción antígeno-anticuerpo (inmunolocalización) a las proteínas virales las cuales se marcan cuando se añade la enzima más un cromógeno. Si el virus no se encuentra en fase de replicación, la síntesis de proteínas virales será muy baja o nula, por lo que no se realiza la reacción antígeno anticuerpo de manera adecuada, razón a la cual atribuimos estos resultados.⁽⁴⁰⁾ La RCP en cambio, es una prueba de alta sensibilidad y especificidad capaz de detectar CMV aún cuando este no es detectado por otras técnicas.⁽⁴⁷⁻⁵¹⁾

CONCLUSIÓN

En conclusión, el presente estudio demuestra que la infección cutánea por CMV y el daño mediado por radicales libres constituyen mecanismos patogénicos importantes en el vitiligo generalizado de inicio reciente.

Financiamiento

El estudio fue subvencionado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concytec) y por la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Margasin SM. Vitiligo. *Piel*. 2000;15:436-41.
- Seung-Kyung H. Vitiligo. *E-Medicine Journal* 2001;2: 1-10. Disponible en: <http://www.emedicine.com>. Acceso 20/06/06.
- Schwartz RA, Janninger Z. Vitiligo. *Pediatric Dermatol. Cutis* 1997;60:239-43.
- Hann SK, Lee HJ. Segmental vitiligo: clinical findings in 208 patients. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35:6712-4.
- Valverde J, Grados MA. Vitiligo: Aspectos clínicos y epidemiológicos. *Folia Dermatol Peru*. 2006;17:21-4.
- Antón C. Vitiligo asociado a otras enfermedades autoinmunes en el Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Dos de Mayo. Junio 2003-febrero 2004. Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2007.
- Kovacs SO. Vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 1998;38:647-66.
- Nordlund JJ, Majumder PP. Investigaciones recientes sobre vitiligo vulgar. *Clin Dermatol*. 1997;1:71-80.
- Buc M, Facekz Sova H, Zcecochova E, Heygi E, Kolibázsova K, Ferenczik S. Occurrence rates of HLA-DRB1, HLA-DQB1 and HLA-DPBI alleles in patients suffering from vitiligo. *Eur J Dermatol*. 1998;8:3-5.
- Hertz KC, Kirkpatrick CH, Katz SI. Autoimmune vitiligo: detection of antibodies to melanin-producing cells. *N Eng J Med*. 1977;297: 634-7.
- Burton JL, Champion RH, Breathnach SM, Burn DA. Vitiligo. In: *Textbook of Dermatology*. 6th Ed. Blackwell Science Inc; 1998:1802-5.
- Nordlund JJ, Ortonne JP. Vitiligo vulgaris. In: King R, Nordlund J, Boissy R, Hearing V, eds. *The pigmented system: physiology & pathophysiology*. Oxford University Press Inc. 1998:513-40.
- Jimbow K, Quevedo WC, Fitzpatrick TB, Szabo G. Biology of melanocytes. In: *Dermatology in General Medicine*. 1993:261-89.
- Eller MS, Ostrom K, Gilchrist BA. DNA damage enclases melanogenesis. *Proc Nat Acad*. 1996;93:1087-92.
- Romero-Graillet C, Aderdam E, Clemet M, Ortenne JP, Ballotti R. Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulated melanogenesis. *J Clin Invest*. 1997;99:635-42.
- Romero-Graillet C, Aderdam E, Clemet M, Ortenne JP, Ballotti R. Ultraviolet B radiation acts through the Nitric Oxide and cGMP signal transduction path way to stimulate melanogenesis in human melanocytes. *J Biol Chem*. 1996;271:2852-6.
- Van den Wijngaard R, Wuankowicz-Kalinska A, Pals S, Weening H, Das P. Autoimmune melanocyte destruction in vitiligo. *Laboratory Investigation*. 2001;81:161-8.
- Das SK, Majumder PP, Majumdar TK, Halder B. Studies on vitiligo II. Familiar aggregation and genetics. *Genet Epidemiol*. 1985; 2:255-62.
- Park S, Albert DM, Bologna JL. Ocular manifestations of pigmentary disorders. *Dermatol Clin*. 1992;10:602-622.
- Fishman P, Merinski O, Bahrsav E, Shoenfeld. Antibodies to tirosinase: the bridge between melanoma and vitiligo. *Cancer*. 1997;79:1461-4.
- Buckley WR. Vitiligo with raised inflammatory border. *Arch Dermatol Syph*. 1953;67:316-20.
- Ghoniun M, Grines PE, Gil G, Kell P. Natural cell-mediated cytotoxicity in vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 1987;17: 600-5.
- Grimes PE, Sevall JS, Vojdani A. Cytomegalovirus DNA identified in skin biopsy specimens of patients of vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35:21-6.
- Sanad E, Mourab B, Nassar S, Talaat S, El Fanash M. Role of human Cytomegalovirus in vitiligo: Effects on macrophages, interleukin 2 (IL-2) receptors, interferon gamma and tenascin. *Pigment Cell Res*. 2001;14:385.
- Akar A, Yapar M, Aksakal A. Vitiligo: cytomegalovirus associated? *Pigment cell Res*. 2002;15:134.
- Galarza C, Ronceros G, Ramos W, Ortega A, Oré R, Ávila J, et al. Infección cutánea por citomegalovirus en relación con el mecanismo patogénico del vitiligo generalizado de inicio reciente. *Dermatol Peru*. 2004;14:180-3.
- Schallreutter KU, Wood JM, Berger J. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol*. 1991;97:1081-5.
- Schallreutter KU, Moore J, Wood JM, et al. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H₂O₂) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by UVB- activated pseudocatalase. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 1999;4:91-96.
- Koca R, Armutcu F, Altinyazar HC, Gurel A. Oxidant-antioxidant enzymes and lipid peroxidation in generalized vitiligo. *Clin Exp Dermatol*. 2004;29:406-9.
- Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Can M. The role of the oxidants in generalized vitiligo. *J EADV* 2004; 18: 683-686.
- Briganti M, Picardo S. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J EADV* 2003;17: 663-9.
- Maresca V, Roccella M, Roccella L, Camera E, Del Porto G, Passi S, Grammatico P, Picardo M. Increased sensitivity to peroxidative agents and possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol*. 1997; 109:3103.
- Boisseau-Garsaud AM, Garsaud P, Lejoli-Boisseaut, Robert M, Quist D, Arbeiler B. Increase in total blood antioxidant status and selenium levels in black patients with active vitiligo. *Int J Dermatol*. 2002;41:640-2.
- Bhawan J, Bhutani LK. Keratinocyte damage in vitiligo. *J Cutan Pathol*. 1983; 10: 207-212.
- Moellmann G, Klein-Angerer S, Scollay DA, et al. Extracellular granular material and degeneration of keratinocytes in the normally pigmented epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol*. 1982;79:321-330.
- Muro RF. Infección gastrointestinal por citomegalovirus humano en biopsias de colon de pacientes con diagnóstico de colitis ulcerativa en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. *Diagnóstico*. 2006;45:117-23.
- Arévalo F, Cerillo G, Sandoval J. Presencia de citomegalovirus en colitis ulcerativa en el Hospital Nacional 2 de Mayo. *Rev Gastroenterol Perú*. 2007; 27:150-4.
- Sterling JC, Kurtz JB. Viral infections. En: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJB, et al. eds. *Textbook of dermatology*. 6th ed. Edinburgh: Blackwell Scientific; 1998. p. 1022- 3.
- Lee JY. Cytomegalovirus involving the skin in immunocompromised hosts. *Am J Clin Pathol*. 1989;92:96-100.

40. Boers KE. Cytomegalovirus infection. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB, eds. *Fitzpatrick's Dermatology in general medicine*, 5 th ed. New York: McGraw-Hill, 1999:2447-50.
41. Bhorade SA, Sandesara C, Garrity ER, Vigneswaran WT, Norwick L, alkan S, Husain AN, McCabe MA, Yeldandi V. Quantification of cytomegalovirus (CMV) viral load by the hybrid capture assay allows for early detection of CMV disease in lung transplant recipients. *J Heart and Lung Transplant*. 2001;20: 928-934.
42. Shukla RC. Evidence for cytomegalovirus infection as the cause of vitiligo. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 1996;62:132-133.
43. Steiner D, Steiner T, Dias M. Análise de sorologia para citomegalovirus em pacientes com vitiligo / Analysis of CMV serology in patients with vitiligo. *An Bras Dermatol*. 2002;77:411-415.
44. Tagle CC. Hallazgos serológicos de enfermedades autoinmunes y virales en pacientes con vitiligo. Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2006.
45. Schallreuter KU, Wood JM, Lemke KR, Levening C. Treatment of vitiligo with a topical application of pseudocatalase and calcium in combination with short-term UVB exposure. *Dermatology*. 1995;190:223-9.
46. Patel DC, Evans AV, Hawk JLM. Topical pseudocatalase mousse and narrowband UVB phototherapy is not effective for vitiligo: an open, single-centre study. *Clin Exp Dermatol*. 2002;27:641-644.
47. Toyoda M, Carlos JB, Galera OA, et al. Correlation of cytomegalovirus DNA levels with response to antiviral therapy in cardiac and renal allograft recipients. *Transplantation*. 1997;63:957-963.
48. Rabella N, Drew WL. Comparison of conventional and shell vial cultures for detecting cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol*. 1990;28: 806-807.
49. Einsele H, Ehninger G, Hebart H, et al. Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus diseases and the duration and side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. *Blood*. 1995;8: 2815-20.
50. Van der Ploeg M, Van der Berg AP, et al. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes: a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation*. 1992;54:193.
51. Boeckh M, Woogard PM, Stevens-Ayers T, Ray CG, Bowden RA. Factors influencing detection of quantitative cytomegalovirus antigenemia. *J Clin Microbiol*. 1994;32:832.

Correspondencia:
Dermatología Peruana
dermatologiaperuana@dermatologia.pe

Fecha de recepción: 7-4-2011

Fecha de aceptación: 28-4-2011